

DANIEL MARQUES

**Investigação epidemiológica de Síndrome Congênita associada à infecção pelo Vírus
Zika no município de Ribeirão Preto**

Ribeirão Preto

2020

DANIEL MARQUES

**Investigação epidemiológica de Síndrome Congênita associada à infecção pelo Vírus
Zika no município de Ribeirão Preto**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Benedito A. Lopes da Fonseca

Ribeirão Preto

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo na publicação
Serviço de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Marques, Daniel.

Investigação epidemiológica de Síndrome Congênita associada à infecção pelo Vírus Zika no município de Ribeirão Preto / Daniel Marques; orientador, Benedito A. Lopes da Fonseca. – 2020.

Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

Versão original

1. Epidemiologia. 2. Vírus Zika. 3. Síndrome Congênita. 4. Ribeirão Preto.

I. Marques, Daniel. II. Fonseca, Benedito A. Lopes da. III. Título.

Nome: MARQUES, Daniel.

Título: Investigação epidemiológica de Síndrome Congênita associada à infecção pelo Vírus Zika no município de Ribeirão Preto.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela sabedoria concedida para encarar este desafio.

Agradeço à minha família pelo apoio em todos os momentos.

Agradeço às mães das crianças com síndrome congênita associada à infecção pelo Vírus Zika pela confiança e generosidade de participar deste estudo.

Agradeço a todos os mestres que tive contato e muito me ensinaram neste caminho da pós-graduação na Universidade de São Paulo.

Agradeço aos colegas do Centro de Pesquisa em Virologia da FMRP-USP pelo apoio na investigação laboratorial.

RESUMO

MARQUES, Daniel. **Investigação epidemiológica de Síndrome Congênita associada à infecção pelo Vírus Zika no município de Ribeirão Preto.** 2020. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

No Brasil, casos de doença exantemática têm sido reportados desde o final de 2014. Em 2015 foram identificados os primeiros casos do vírus Zika (ZIKV) em amostras de soro de pacientes no estado do Rio Grande do Norte, concomitantemente, foi identificada a doença na Bahia. Em 2016, as 27 Unidades Federadas apresentavam confirmação laboratorial da circulação autóctone do ZIKV. No Estado de São Paulo a transmissão foi intensa, o maior número de casos foi notificado no município de Ribeirão Preto, um total de 760 gestantes suspeitas de infecção por ZIKV. O objetivo deste estudo foi descrever os casos de síndrome congênita associada à infecção pelo ZIKV ocorridos no município de Ribeirão Preto, caracterizando segundo tempo, lugar e pessoa. Trata-se de um estudo descritivo de uma série de casos prováveis de síndrome congênita associada à infecção pelo ZIKV notificados no município de Ribeirão Preto. Do final de 2015 até dezembro de 2017 foram registrados 60 casos. A maioria dos casos confirmados de SCZ teve início de sintomas no primeiro trimestre da gestação, o que comprova que quanto mais cedo é a infecção, maiores são as alterações neurológicas no feto. Neste estudo foi comprovada laboratorialmente a infecção, evidenciada pela presença de anticorpos anti-Zika em todas as 24 mulheres testadas por PRNT. A mediana do perímetro cefálico ao nascer foi de 31 centímetros, sendo o menor 26,5 e 34 o maior. Utilizando o critério antropométrico, 11 (61%) casos atenderam a definição de caso, sendo oito (73%) casos classificados como microcefalia grave e três (27%) casos como microcefalia. Com base no critério clínico, sete (39%) casos apresentaram ultrassom com padrão alterado na gestação. Nenhum caso apresentou artrogripose ou anormalidades visuais, com base nas informações do banco de dados. O peso ao nascer de 12 (67%) casos ficou acima de 2500 gramas e seis (33%) entre 1500 e 2500 gramas. Os achados comprovam a existência de uma epidemia por ZIKV na população que gerou casos de síndrome congênita associados à infecção pelo ZIKV na gestação através da identificação de anticorpos anti-Zika. Esta foi a primeira descrição de casos de ZIKV e de SCZ no município de Ribeirão Preto. A técnica de PRNT para diagnóstico etiológico foi essencial para esclarecer os casos que não tinham definição etiológica.

Palavras-chave: Zika vírus. Síndrome Congênita. Vigilância Epidemiológica.

ABSTRACT

MARQUES, Daniel. **Epidemiological investigation of Congenital Syndrome associated with Zika Virus infection in the city of Ribeirão Preto.** 2020. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

In Brazil, cases of rash disease have been reported since the end of 2014. In 2015, the first cases of the Zika virus (ZIKV) were identified in serum samples from patients in the state of Rio Grande do Norte, concomitantly, the disease was identified in Bahia. In 2016, the 27 Federated Units presented laboratory confirmation of the autochthonous circulation of the ZIKV. In the State of São Paulo the transmission was intense, the largest number of cases was reported in the city of Ribeirão Preto, a total of 760 pregnant women suspected of being infected with ZIKV. The objective of this study was to describe the cases of congenital syndrome associated with ZIKV infection that occurred in the city of Ribeirão Preto, characterizing the second time, place and person. This is a descriptive study of a series of probable cases of congenital syndrome associated with ZIKV infection reported in the city of Ribeirão Preto. From the end of 2015 to December 2017, 60 cases were registered. The majority of confirmed cases of SCZ had onset of symptoms in the first trimester of pregnancy, which proves that the earlier the infection is, the greater the neurological changes in the fetus. In this study, the infection was laboratory proven, evidenced by the presence of anti-Zika antibodies in all 24 women tested by PRNT. The median head circumference at birth was 31 centimeters, the smallest being 26.5 and 34 the largest. Using the anthropometric criterion, 11 (61%) cases met the case definition, with eight (73%) cases classified as severe microcephaly and three (27%) cases as microcephaly. Based on clinical criteria, seven (39%) cases presented ultrasound with an altered pattern during pregnancy. No case presented arthrogriposis or visual abnormalities, based on information from the database. The birth weight of 12 (67%) cases was above 2500 grams and six (33%) between 1500 and 2500 grams. The findings prove the existence of an epidemic by ZIKV in the population that generated cases of congenital syndrome associated with ZIKV infection in pregnancy through the identification of anti-Zika antibodies. This was the first description of cases of ZIKV and SCZ in the city of Ribeirão Preto. The PRNT technique for etiological diagnosis was essential to clarify cases that had no etiological definition.

Keywords: Zika virus. Congenital Syndrome. Epidemiologic Surveillance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Distribuição dos casos notificados e confirmados de febre pelo vírus Zika no Brasil por município de notificação, até a SE 32, Brasil, 2016..... 14
- Figura 2** - Oportunidade de detecção do vírus Zika e de anticorpos segundo o período de incubação e início de sintomas. 17
- Figura 3** - Classificação dos casos prováveis de SCZ de acordo com o diagnóstico e evolução.....21
- Figura 4** - Número de casos da população de estudo, incluídos e excluídos na coleta de dados primários.22
- Figura 5** - Curva epidemiológica de casos de ZIKV notificados (N=2.914), casos confirmados em gestantes (N=851) e casos confirmados de SCZ (N=12) de acordo com a semana de início de sintomas. Município de Ribeirão Preto, 2015 a 2017.23
- Figura 6** - Trimestre gestacional do início de sintomas de mulheres com exantema e RT-PCR positivo para ZIKV..... 23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Casos de SCZ notificados no momento da notificação.	20
Tabela 2 - Características das mães incluídas no estudo.	24
Tabela 3 - Características dos RN vivos com suspeita de SCZ notificados.	26
Tabela 4 - Resultados laboratoriais.	27

LISTA DE SIGLAS

CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CEVESP	Central de Vigilância de Emergência em Saúde Pública
CPV	Centro de Pesquisa em Virologia
CVE	Centro de Vigilância Epidemiológica
ECDC	Centro de Controle de Doenças da União Europeia
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ESPII	Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional
FMRP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
GVE	Grupo de Vigilância Epidemiológica
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
LVE	Lista Estadual de Verificação de Emergências
LVM	Laboratório de Virologia Molecular
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAHO	Pan American Health Organization
PRNT	Teste de Neutralização por Redução de Placas
RESP	Registro de Eventos de Saúde Pública
RN	Recém-nascido
RNA	Ácido Ribonucleico
RSI	Regulamento Sanitário Internacional
RT-PCR	Reação da Transcriptase Reversa - Reação em Cadeia da Polimerase
SCZ	Síndrome Congênita do Vírus Zika
SE	Semana Epidemiológica
SINASC	Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos
SNC	Sistema Nervoso Central
STORCH	Sífilis, Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus, Herpes simplex
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
USP	Universidade de São Paulo
VE	Vigilância Epidemiológica
ZIKV	Vírus Zika

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	O VÍRUS ZIKA.....	11
2.1	Transmissão vertical do vírus Zika.....	11
2.2	Distribuição mundial e no brasil	12
2.3	Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII)	15
2.4	Notificação de eventos em Saúde Pública referente às microcefalias	16
2.5	Diagnóstico específico do ZIKV	17
3	JUSTIFICATIVA	17
4	OBJETIVOS.....	18
4.1	Geral.....	18
4.2	Específicos	18
5	MÉTODO	18
5.1	Coleta de dados	19
5.2	Análise das amostras de sangue.....	19
6	RESULTADOS	20
6.1	Banco de Dados Secundário.....	20
6.2	Coleta de dados primários	22
7	DISCUSSÃO	28
	CONCLUSÕES.....	36
	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	37
	REFERÊNCIAS	38
	ANEXO A	42
	ANEXO B	46

1 INTRODUÇÃO

Este estudo foi elaborado a partir de uma necessidade em comum da Vigilância Epidemiológica Regional e do Laboratório de Virologia da Universidade de São Paulo, em Ribeirão Preto. As informações iniciais dos casos de microcefalia eram recebidas pela Vigilância Epidemiológica e precisavam receber um tratamento específico para entender melhor o comportamento desse novo agravo. Durante as reuniões na Secretaria de Estado da Saúde com especialistas no assunto surgiu a ideia de reunir os dados e contar com o apoio do laboratório da universidade para elucidar o diagnóstico laboratorial dos casos. A partir de então iniciou-se o projeto de pesquisa e colaboração.

2 O VÍRUS ZIKA

O ZIKV é um arbovírus (iniciais em inglês de arthropod, borne e vírus), pertencente ao sorocomplexo Spondweni, gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, que apresenta relação genética e sorológica com outros flavivírus de importância em saúde pública como o vírus da dengue, o da febre amarela e o do oeste do Nilo (FAYE et al., 2014).

Estudos filogenéticos mencionam três linhagens do vírus, conforme Lanciotti et al. (2008), sendo o da África do Leste, o da África do Oeste e o Asiático enquanto, para Haddow et al. (2012), na região leste da África o vírus é mantido em ciclo silvestre envolvendo principalmente primatas não humanos e mosquitos do gênero *Aedes*. Desta forma, Duffy et al. (2009) considera que o homem é um hospedeiro amplificador primário em áreas onde não há primatas não humanos.

2.1 Transmissão vertical do vírus Zika

Uma característica marcante da epidemia atual pelo ZIKV é o aumento do risco aparente de transmissão intrauterina ou perinatal do vírus. Na Polinésia Francesa a transmissão vertical do ZIKV foi descrita. Na ocasião, a estimativa foi de 28.000 pessoas infectadas entre 2013 e 2014. Duas mães e seus RN tiveram confirmação da infecção por Reação da Transcriptase Reversa, seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (RT-PCR) em soro coletado quatro dias após o parto, sugerindo infecção por via transplacentária. Relatos feitos por Musso et al. (2014), concluem que amostras de leite materno de ambas as mães

foram avaliadas por RT-PCR com resultados positivos para o ZIKV, entretanto sem partículas replicativas.

No Brasil, em 2015, houve um aumento importante na prevalência de microcefalia ao nascer, com evidências que apoiam o reconhecimento da relação entre a ocorrência desses casos e o ZIKV. Segundo Melo et al. (2016), uma contribuição importante para elucidar essa relação causal foi a identificação do ZIKV no líquido amniótico de duas gestantes no estado da Paraíba com histórico de doença exantemática e fetos com microcefalia detectados na ultrassonografia fetal. A partir desse achado, estudos adicionais foram feitos, o que possibilitou o sequenciamento genético completo do vírus isolado do líquido amniótico.

A análise filogenética revelou que o vírus compartilha 97-100% da sua identidade genômica com a linhagem asiática isolada no surto da Polinésia Francesa e que a presença do genoma viral nos pacientes por algumas semanas após a fase aguda sugere que a carga viral intraútero resulta da replicação persistente (CALVET et al., 2016).

Em 2016, a Pan American Health Organization (PAHO), descreveu a identificação do genoma do ZIKV em células da placenta em um aborto na oitava semana, por meio de técnicas de RT-PCR, o que reforça o potencial da transmissão placentária.

Além disso, de acordo com Martines et al. (2016), foi confirmada pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) a presença do vírus através das técnicas de RT-PCR e imuno-histoquímica no tecido cerebral de quatro RN com microcefalia e/ou malformações graves cerebrais que evoluíram para o óbito após o nascimento e nas placentas de fetos abortados na 12^a semana de gestação.

Em setembro de 2016, foi publicado o resultado preliminar de um estudo encomendado pelo Ministério da Saúde que evidenciou forte associação entre a microcefalia e a confirmação laboratorial de infecção pelo vírus Zika em RN através de RT-PCR e Imunoglobulina M (IgM) específico para Zika no líquido e no soro de bebês nascidos no município de Recife (Pernambuco). Para Araújo et al. (2016), os achados sugerem que a epidemia de microcefalia é resultado da infecção congênita pelo ZIKV.

2.2 Distribuição mundial e no Brasil

No ano de 1947 foi relatado o primeiro isolamento do vírus Zika (ZIKV) em sangue de macaco do gênero Rhesus e em mosquitos da espécie *Aedes (Stegomyia) africanus* na floresta de Ziika, Uganda (DICK, KITCHEN e HADDOW, 1952). Seguindo a linha de pesquisa, outros relatos mencionam que, sete anos depois, em 1954, foram identificados três

casos de infecção em humanos durante uma epidemia na Nigéria (MACNAMARA, et al., 1954). Desta forma verifica-se que o vírus continuou se dispersando esporadicamente para outras regiões e alguns surtos foram reportados em diferentes países da África, da Ásia e Ilhas do Pacífico (IOOS et al., 2014).

Posteriormente, em 2007, o ZIKV foi isolado pela primeira vez fora da África e da Ásia causando uma epidemia na Ilha de Yap (Micronésia) que infectou aproximadamente 70% dos moradores (DUFFY et al., 2009), seguida por uma grande epidemia na Polinésia Francesa, em 2013-2014 e logo em seguida o vírus dispersou-se para outras ilhas do Pacífico (MUSSO, NILLES e CAO-LORMEAU, 2014; DUPONT-ROUZEYROL, 2015).

No continente americano os primeiros casos de circulação do vírus ocorreram em 2014. Em fevereiro desse ano, as autoridades de saúde pública do Chile confirmaram o primeiro caso de transmissão do vírus na Ilha da Páscoa. Desde outubro de 2015, a World Health Organization divulgou que diversos casos de infecção pelo ZIKV foram confirmados no México, Paraguai, Guatemala, El Salvador, Colômbia, Panamá, Honduras, Ilha de Santiago, Cabo Verde e na Venezuela.

No Brasil, casos de doença exantemática têm sido reportados desde o final de 2014. No começo do ano de 2015, pacientes da cidade de Natal, estado de Rio Grande do Norte, apresentaram sintomas compatíveis com dengue. Neste mesmo ano foram identificados os primeiros casos do ZIKV em amostras de soro de pacientes da cidade de Natal (CARDOSO et al., 2015). Concomitantemente, também foi identificada a doença em pacientes residentes em Camaçari, na Bahia, sendo que no estado da Bahia já havia a co-circulação de dengue e chikungunya (CAMPOS, BANDEIRA e SARDI, et al., 2015). As análises filogenéticas dos isolados demonstraram 99% de identidade com a linhagem asiática, reportada em epidemias das Ilhas do Pacífico (MUSSO et al., 2014).

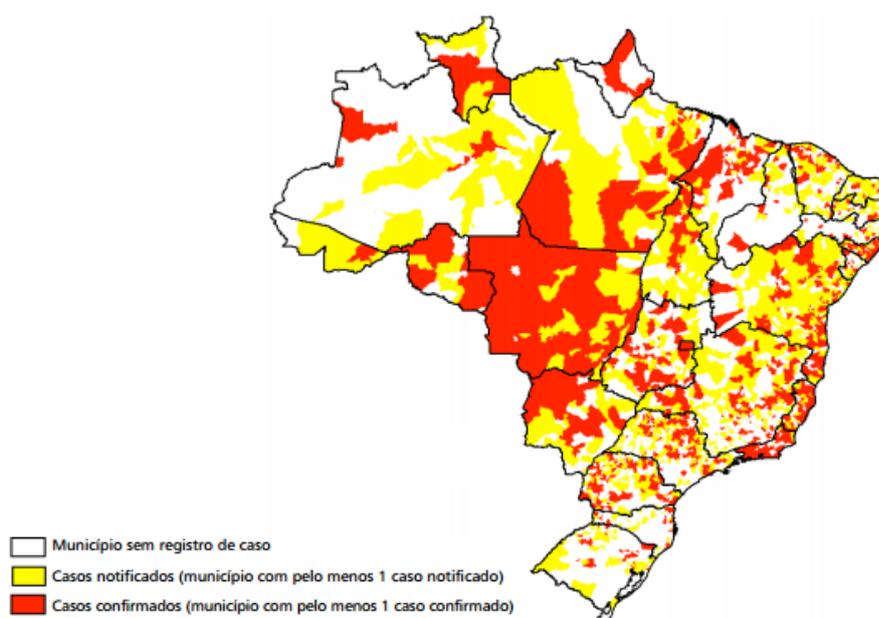
Em maio de 2015 também foram confirmados casos laboratorialmente em Sumaré e Campinas (Estado de São Paulo) por transmissão transfusional, também em Maceió (Alagoas) e Belém (Pará). Já na semana epidemiológica 12 de 2016, as 27 Unidades Federadas apresentavam confirmação laboratorial da circulação autóctone do ZIKV, conforme pesquisas de Marcondes e Ximenes (2016), bem como Vasconcelos (2015).

Em 2016, a Secretaria de Vigilância em Saúde emitiu um boletim epidemiológico confirmando que até a semana epidemiológica (SE) 32 do mesmo ano foram registrados 196.976 casos prováveis de febre pelo ZIKV no país (taxa de incidência de 96,3 casos/100 mil habitantes), distribuídos em 2.277 municípios, tendo sido confirmados 101.851 casos. A análise da taxa de incidência de casos prováveis (por 100 mil habitantes) segundo regiões

geográficas demonstra que a região Centro-Oeste apresentou a maior taxa de incidência: 188,1 casos. Entre as Unidades da Federação, destacam-se Mato Grosso (652,9), Bahia (328,2) e Rio de Janeiro (363,6).

Em 2016 foram confirmados laboratorialmente três óbitos por ZIKV, dois no Rio de Janeiro e um no Espírito Santo. Em relação às gestantes, foram registrados 16.264 casos prováveis, sendo 8.904 confirmados por critério clínico-epidemiológico ou laboratorial. No mapa abaixo (Fig. 1), verifica-se a distribuição dos casos de ZIKV notificados e confirmados no Brasil até a SE 32.

Figura 1 – Distribuição dos casos notificados e confirmados de febre pelo vírus Zika no Brasil por município de notificação, até a SE 32, Brasil, 2016.



Fonte: BRASIL, 2017.

No estado de São Paulo, até 16 de agosto de 2016 (semana epidemiológica 33) foram notificados 8498 casos, destes, 3678 confirmados, sendo 643 gestantes. Destas, 630 casos são autóctones. Na região do Departamento Regional de Saúde de Ribeirão Preto, composta de 26 municípios, até a semana epidemiológica 36, foram notificados 1.030 casos de gestantes com exantema, sendo 448 confirmados por critério laboratorial. O maior número de casos foi notificado no município de Ribeirão Preto, um total de 760 gestantes suspeitas. O Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac” apresentou uma Lista Estadual de Verificação de Emergências (LVE) na qual notificou a presença de casos em outros 21 municípios da região, como Altinópolis, Barrinha, Batatais, Brodowski, Cajuru, Cravinhos, Dumont, Guariba, Guataporá, Jaboticabal, Jardinópolis, Luis Antonio, Monte Alto,

Pitangueiras, Pontal, Pradópolis, Santa Rita do Passa Quatro, Santa Rosa de Viterbo, São Simão, Serrana e Sertãozinho.

2.3 Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII)

Em 22 de outubro de 2015, a Secretaria de Estado da Saúde de Pernambuco notificou e solicitou apoio do Ministério da Saúde para complementar as investigações iniciais de vinte e seis casos de microcefalia recebidos de diversos serviços de saúde.

Por se tratar de evento raro e comparando com o perfil clínico e epidemiológico dessa doença naquele Estado, concluiu-se que se tratava de evento de Importância para a Saúde Pública Estadual. Desde então, o Ministério da Saúde apoiou as investigações em Pernambuco e nos demais Estados da região Nordeste, tendo notificado à Organização Mundial da Saúde (OMS) em 23 de outubro de 2015, conforme fluxo do Regulamento Sanitário Internacional (RSI). Naquele momento uma das principais hipóteses da ocorrência de microcefalias em investigação era a infecção pelo ZIKV e as demais causas anteriormente conhecidas, como outras infecções virais, exposição a produtos físicos, químicos ou fatores genéticos.

Em 24 de novembro de 2015, foi publicada a “Avaliação Rápida de Risco – Microcefalia no Brasil potencialmente relacionada à epidemia de vírus Zika”, realizada pelo Centro de Controle de Doenças da União Europeia (ECDC), sendo que neste documento é relatado que a Polinésia Francesa notificou um aumento incomum de pelo menos 17 casos de malformações do Sistema Nervoso Central em fetos e RN durante 2014-2015, coincidindo com o surto de ZIKV no local. Nenhuma destas gestantes relatou sinais de infecção pelo ZIKV, mas em quatro delas foram encontrados anticorpos (IgG) para Flavivírus em sorologia, sugerindo infecção assintomática. Do mesmo modo como ocorrido no Brasil, autoridades de saúde da Polinésia Francesa também acreditavam que o ZIKV poderia estar associado às alterações neurológicas congênitas, caso as gestantes estivessem infectadas durante o primeiro ou segundo trimestre de gestação.

Em 28 de novembro de 2015 o Ministério da Saúde reconheceu a relação entre o aumento na prevalência de microcefalias no Brasil e a infecção pelo ZIKV durante a gestação com base nos resultados preliminares das investigações clínicas, epidemiológicas e laboratoriais. Houve a identificação do vírus em líquido amniótico de duas gestantes da Paraíba com histórico de doença exantemática durante a gestação e fetos com microcefalia e também a identificação de ZIKV em tecido de RN com microcefalia que evoluiu para óbito

no estado do Ceará. No dia seguinte, 29 de novembro, o Ministério da Saúde alterou a classificação desse evento, no âmbito do RSI, para potencial ESPII.

Sabe-se que as malformações congênitas, dentre elas a microcefalia, têm etiologia complexa e multifatorial, podendo ocorrer em decorrência de processos infecciosos durante a gestação. As evidências disponíveis na ocasião indicavam fortemente que o ZIKV estaria relacionado à ocorrência de microcefalias. No entanto, não há como afirmar que a presença deste vírus durante a gestação leva, inevitavelmente, ao desenvolvimento de microcefalia no feto. Como ocorre em outras infecções congênitas, o desenvolvimento dessas alterações depende de diferentes fatores, que podem estar relacionados à carga viral, fatores do hospedeiro, momento da infecção ou presença de outros fatores e condições desconhecidos até o momento. Por isso, é importante continuar os estudos para descrever melhor a história natural desta nova doença.

2.4 Notificação de eventos em Saúde Pública referente às microcefalias

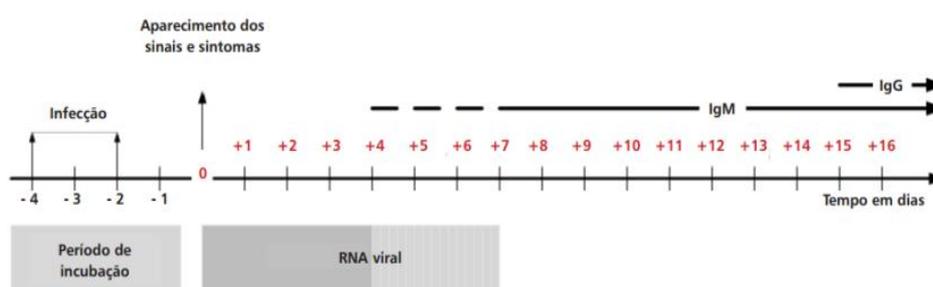
O Ministério da Saúde brasileiro publicou um protocolo de vigilância para que os serviços públicos e privados notificassem compulsoriamente todos os casos suspeitos de microcefalia relacionada ou não ao ZIKV no formulário de Registro de Eventos de Saúde Pública (RESP), formulário online e disponível no endereço eletrônico <www.resp.saude.gov.br>. Este formulário é composto por uma série de perguntas relacionadas à puérpera, RN ou lactente e contém informações sobre a gestação e parto, tais como dados clínicos, epidemiológicos e local de ocorrência do parto. A partir da notificação dos casos suspeitos no RESP as informações são incluídas em um banco de dados único, cujos dados podem ser acessados somente pela Unidade Federada do local de residência dos casos. Os dados foram utilizados para melhor compreender a magnitude do evento de saúde pública em cada Unidade Federada e subsidiar os gestores quanto aos aspectos logísticos e operacionais na investigação dos casos.

No Estado de São Paulo, foi criado um banco de dados denominado Central de Vigilância de Emergência em Saúde Pública (CEVESP) para inclusão das gestantes suspeitas de infecção pelo ZIKV e foi a ferramenta para agilizar oportunamente a resposta e análise frente a esta nova epidemia. Diante de um caso de gestante com exantema agudo o profissional da unidade de saúde deve preencher uma ficha de apoio à investigação de ZIKV e comunica à Vigilância Epidemiológica (VE) municipal. Além disso, o caso era incluído no sistema CEVESP.

2.5 Diagnóstico específico do ZIKV

O diagnóstico laboratorial específico de ZIKV baseia-se principalmente na detecção de Ácido Ribonucleico (RNA) viral a partir de espécimes clínicos, durante o período de infecção aguda, sorologia Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) e teste de neutralização na fase de convalescença da doença. O período de viremia não está completamente estabelecido, mas acredita-se que seja de curta duração. Desta forma, seria possível a detecção direta do vírus em um período de um a quatro dias após o início dos sintomas no soro do paciente e de um a nove dias na urina. De acordo com um protocolo de vigilância divulgado pelo Ministério da Saúde, o diagnóstico molecular é mais preciso quando a avaliação da infecção for mais precoce, no que se refere ao aparecimento dos sintomas, conforme ilustrado na Figura 2.

Figura 2 – Detecção do ZIKV e de anticorpos segundo o período de incubação e início de sintomas.



Fonte: BRASIL, 2017.

3 JUSTIFICATIVA

É importante registrar a primeira ocorrência do ZIKV no município de Ribeirão Preto uma vez que este foi o local com maior notificação de casos do vírus no Estado de São Paulo. Desta forma é possível elucidar o comportamento epidêmico deste vírus para tentar preencher as lacunas ainda existentes no conhecimento acerca da sua infectividade, patogenicidade, virulência e imunogenicidade. Este estudo epidemiológico no município de Ribeirão Preto é relevante e pertinente porque contribui para o conhecimento desta epidemia sem precedentes, podendo levar ao aperfeiçoamento da qualidade da assistência pré-natal e infantil na região e trazer novas contribuições para as políticas públicas de saúde.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Descrever os casos de Síndrome Congênita associada ao Vírus Zika (SCZ) ocorridos no município de Ribeirão Preto, caracterizando segundo tempo, lugar e pessoa.

4.2 Específicos

- Caracterizar o surto de síndrome congênita identificado durante a epidemia de ZIKV no município de Ribeirão Preto;
- Investigar a associação entre os casos de síndrome congênita e a infecção pelo ZIKV na gestação;
- Identificar a presença de anticorpos anti-Zika nas mães dos casos de síndrome congênita utilizando a técnica de Teste de Neutralização por Redução de Placas (PRNT).

5 MÉTODO

Estudo descritivo de uma série de casos prováveis de síndrome congênita associada à infecção pelo ZIKV notificados no município de Ribeirão Preto. A fonte de dados foi o banco de casos notificados pelos serviços de saúde e enviados ao Ministério da Saúde que, posteriormente, reportaram para o sistema de vigilância epidemiológica do município de residência da mãe, através do Grupo de Vigilância Epidemiológica (GVE) de Ribeirão Preto do Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) da Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo. As unidades de saúde notificantes foram Unidades Básicas de Saúde, consultórios particulares de ginecologistas, maternidades públicas e privadas e o hospital terciário de referência de Ribeirão Preto.

Também foi utilizado o banco de dados de gestantes com exantema, notificados no Estado de São Paulo. Estes bancos de dados denominados RESP e CEVESP reúnem as notificações de RN ou fetos com microcefalia e/ou outras alterações neurológicas e gestantes com exantema. Os casos incluídos no estudo foram notificados a partir do ano de 2015 até 2017, uma vez que a partir de 2015 foi reportado o primeiro caso de microcefalia no estado de São Paulo e o início da vigilância deste agravo.

5.1 Coleta de dados

Todos os casos de microcefalia e/ou alteração neurológica notificados no município de Ribeirão Preto foram descritos segundo tempo, lugar e pessoa de acordo com os registros do banco de dados secundários (RESP). Adicionalmente, foi realizada coleta de dados primários com as mães dos casos notificados por meio de um instrumento de coleta de dados (questionário semiestruturado – Anexo A), desde que houvesse consentimento prévio assinado pelas mesmas. A entrevista foi realizada pelo próprio doutorando, autor do estudo. Após a coleta dos dados primários foi feita a descrição dos casos, incluindo mães e bebês. Na ocasião da visita domiciliar foi coletada amostra de sangue do bebê e da mãe, por um profissional técnico de enfermagem treinado para este procedimento. A análise das amostras foi realizada no Laboratório de Virologia Molecular do Centro de Pesquisa em Virologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (LVM-CPV-FMRP-USP), conforme detalhado adiante.

Para cada caso notificado havia a informação se a mãe apresentou ou não sintomas de infecção pelo ZIKV na gestação. Das mães que apresentaram sintomas foi verificado registro de procura por assistência à saúde e coleta de sangue para pesquisa de ZIKV no período agudo de infecção. Na ocasião, essas amostras foram analisadas pela Seção de Doenças de Transmissão Vetorial no Instituto Adolfo Lutz (IAL) - laboratório de referência em saúde pública e realizado RT-PCR. Já os casos das mães que não apresentaram sintomas durante a gestação e que não possuíam exames específicos para ZIKV no IAL, foram avaliados no LVM-USP para detectar a presença de anticorpos neutralizantes anti-Zika por meio de técnica de PRNT para definição da associação da síndrome congênita com a infecção pelo ZIKV. A consolidação dos dados e a respectiva análise foram feitas no Programa R, software livre.

5.2 Análise das amostras de sangue

As amostras de sangue foram centrifugadas e o soro separado. O PRNT foi realizado no soro dos indivíduos por meio de incubação por 12 horas à 4°C do soro previamente inativado (56°C por uma hora) com uma quantidade de vírus que resulta em cerca de 35-50 placas de lise em cultura de célula Vero. Diluições do soro foram realizadas para avaliação do potencial de redução da formação de placas, com um cut off de 1/500 (diluição). Foi considerada positiva a amostra com 50% das placas neutralizadas, de acordo com o controle. Este exame foi realizado pelo técnico do LVM. Também foi realizado o teste

imunocromatográfico rápido para detecção qualitativa simultânea de anticorpos IgG e IgM contra o ZIKV no soro (QuickProfile® Zika vírus IgG/IgM Combo Test Card – REF 71090) pelo próprio pesquisador, com os kits disponibilizados no LVM-USP.

6 RESULTADOS

6.1 Banco de Dados Secundário

Os casos de microcefalia começaram a ser notificados no município de Ribeirão Preto a partir de 24 de novembro de 2015 sendo que, até dezembro de 2017, foram registrados 60 casos no sistema RESP, conforme descrito, de acordo com a classificação, na Tabela 1.

Tabela 1 - Casos de SCZ notificados no momento da notificação.

Momento da notificação	N (%)
RN com microcefalia e/ou alterações do SNC (< 28 dias)	24 (40)
Feto com alterações do SNC	05 (8)
Aborto espontâneo (até 22 semanas)	15 (25)
Natimorto com microcefalia e/ou alterações do SNC	06 (10)
Excluídos (fora da definição de caso)	10 (17)
Total	60 (100)

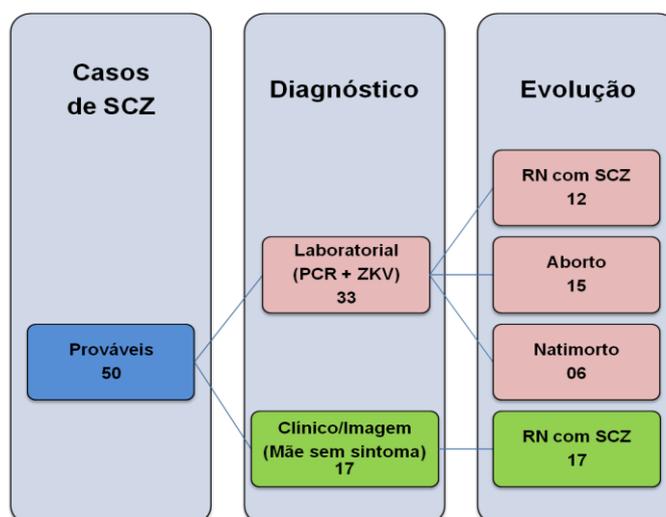
Fonte: o autor, 2020.

Foi realizada uma avaliação da qualidade do banco de dados RESP, que apresenta as seguintes variáveis: nome da mãe, idade, endereço, data de nascimento ou do aborto, peso ao nascer, detecção da microcefalia, idade gestacional, perímetro cefálico, sinais e sintomas da mãe durante a gestação, deslocamentos, local provável de infecção, exames realizados no pré-natal, local de nascimento, exames de imagem, resultados de exames de sangue e urina da mãe, material coletado do RN ou feto. Dez casos (17%) notificados foram excluídos já no início porque não cumpriam a definição de caso de SCZ vigente do Ministério da Saúde.

Os 50 casos que atendiam a definição de caso de SCZ foram classificados de acordo com o momento da notificação. A maior parte dos casos, 24 (40%), foi notificada após o nascimento, pelos profissionais de vigilância epidemiológica das maternidades. Estes casos nasceram com microcefalia e/ou alterações do SNC e foram alvo de acompanhamento no

ambulatório de pediatria do Hospital das Clínicas da USP Ribeirão Preto, posteriormente, pela atenção básica do município. Apenas cinco (8%) casos foram notificados durante o pré-natal, com alterações do SNC detectadas através de exame de imagem. Destes, quatro notificados por hospitais da rede pública de saúde e apenas um por um hospital privado. Estes casos foram encaminhados para darem continuidade no pré-natal no ambulatório de Ginecologia do Hospital de Clínicas da USP Ribeirão Preto. Os abortos foram notificados por diversos tipos de unidades de saúde, representando 25% dos casos. Já os casos de natimortos com microcefalia e/ou alteração do SNC foram seis (10%), notificados por maternidades públicas e privadas. Partindo da seleção dos 50 casos prováveis de SCZ entre 2015 e 2017, no município de Ribeirão Preto, a classificação encontrada está descrita na Figura 3.

Figura 3 - Classificação dos casos prováveis de SCZ de acordo com o diagnóstico e evolução.



Fonte: o autor, 2020.

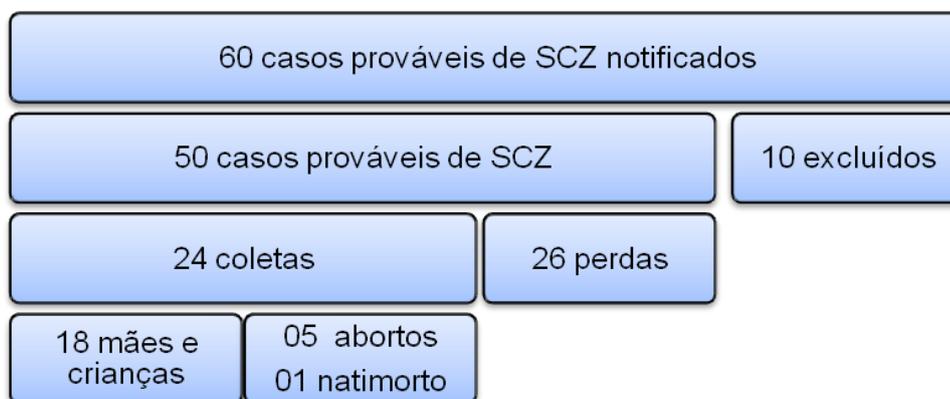
De acordo com o diagnóstico, 33 (66%) casos manifestaram sintoma (exantema) durante a gestação, todas gestantes procuraram atendimento médico e foram notificadas pelos profissionais de saúde que realizaram o atendimento. Esta informação foi recuperada do sistema CEVESP. Em todos esses casos foi realizada coleta sangue para RT-PCR para o vírus Zika oportunamente na vigência da infecção e que resultaram positivos. Portanto, estes casos foram encerrados como confirmados de SCZ. Os outros 17 (34%) casos não manifestaram sintomas durante a gestação, foram detectados e notificados pelos serviços de saúde durante o pré-natal ao realizar ultrassonografia ou até mesmo no parto. Sendo assim, tiveram que ser classificados em SCZ pelo exame de imagem ou apenas clinicamente, de acordo com o protocolo no Ministério da Saúde. Todos evoluíram como RN vivos.

6.2 Coleta de dados primários

Após a primeira avaliação do banco RESP já descrita, o próximo passo foi a coleta de dados primários de todos os cinquenta casos prováveis. Antes de dar início à coleta desses dados nas residências, foi verificada a identificação das mães junto ao cadastro da Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto, com o auxílio da equipe de vigilância epidemiológica. Após a confirmação e atualização dos dados cadastrais iniciou-se o contato com as mães por telefone para explicar o objetivo da pesquisa, obter o aceite inicial de participação e agendar a visita na casa. Todos os contatos foram feitos pelo próprio pesquisador.

De agosto de 2017 a fevereiro de 2018 foi realizada a coleta de dados primários. Dos 50 casos prováveis de SCZ, 26 (52%) foram considerados como perda pelos seguintes motivos: recusa da mãe participar do estudo; contato telefônico sem sucesso ou ninguém foi encontrado no endereço após três tentativas presenciais; endereço cadastrado inexistente e mudança de residência para outro município. A Figura 4 ilustra o número de casos notificados da população de estudo, incluídos e excluídos.

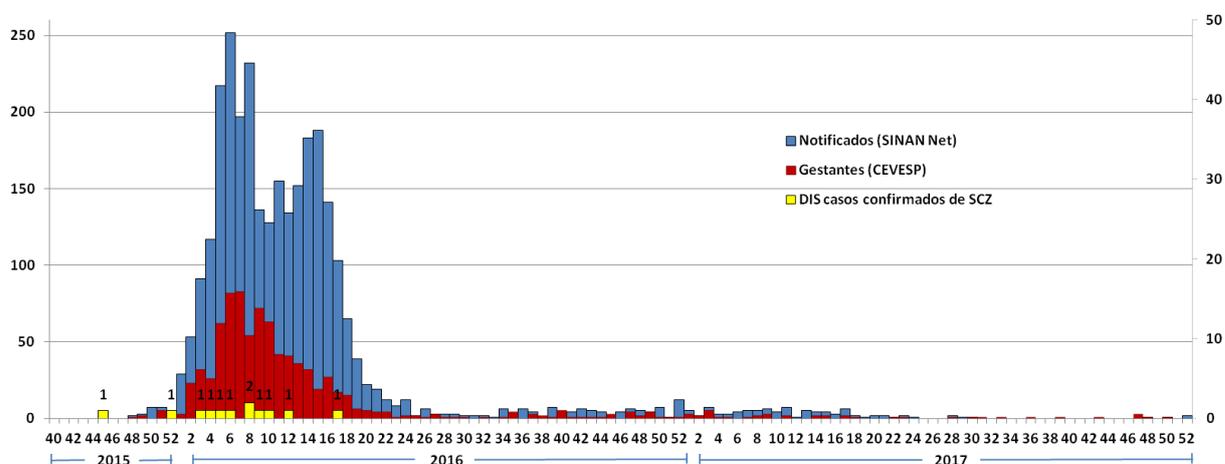
Figura 4 - Número de casos da população de estudo, incluídos e excluídos na coleta de dados primários.



Fonte: o autor, 2020.

No total, 24 (48%) mulheres aceitaram participar do estudo e foram incluídos, destes, 18 (75%) RN vivos com as respectivas mães e seis (25%) que evoluíram para aborto/natimorto. Para contextualizar temporalmente os resultados deste estudo, foi verificado o número de casos de ZIKV notificados na população geral (SINAN Net), nas gestantes (CEVESP) e construída a curva epidemiológica (Fig. 5), desde a identificação do primeiro caso, no final do ano de 2015.

Figura 5 - Curva epidemiológica de casos de ZIKV notificados (N=2.914), casos confirmados em gestantes (N=851) e casos confirmados de SCZ (N=12) de acordo com a semana de início de sintomas. Município de Ribeirão Preto, 2015 a 2017.



Fonte: o autor, 2020.

No gráfico da Figura 5 estão representados em amarelo os 12 casos de gestantes que realizaram coleta de sangue e identificação de ZIKV por RT-PCR oportunamente na vigência da infecção, de acordo com a semana de início de sintomas. Temporalmente, o início dos sintomas dessas mulheres que tiveram filhos com SCZ ocorreu no mesmo período do início da circulação do ZIKV no município e do pico de incidência da doença na população.

Na avaliação do banco de dados dos RN notificados por suspeita de SCZ, foram identificadas 18 crianças que nasceram com alteração neurológica, 12 mulheres manifestaram exantema durante a gestação. Destas, nove (75%) coletaram amostra de sangue oportunamente para diagnóstico por RT-PCR no período da infecção aguda, resultando em oito casos positivos. Entre as 12 mulheres, em nove casos a infecção ocorreu no primeiro trimestre da gestação, dois no segundo trimestre e um no terceiro trimestre (Fig. 6). A gestação de cinco dessas mulheres foi interrompida espontaneamente antes da 22ª semana (aborto).

Figura 6 - Trimestre gestacional do início de sintomas de mulheres com exantema e RT-PCR positivo para ZIKV.



Fonte: o autor, 2020.

Na Tabela 2 estão reunidas as características da população que aceitou participar deste estudo, ou seja, as 24 mulheres que tiveram gestação durante a epidemia de ZIKV e que evoluíram com SCZ.

Tabela 2 - Características das mães incluídas no estudo.

Características das mães. N=24	N (%)
Idade (mediana)	25 [17-40]
Escolaridade	
Médio	16 (67)
Fundamental	07 (30)
Superior	01 (3)
Distrito de residência	
Norte	07 (29)
Oeste	07 (29)
Sul	05 (21)
Leste	03 (13)
Central	02 (8)
Momento da notificação	
Após o parto	14 (58)
Aborto/natimorto	06 (25)
Durante a gestação	04 (17)
Ultrassom fetal (19)	
Com alteração	12 (63)
Ignorado	05 (26)
Sem alteração	02 (11)
Trimestre do exantema	
Primeiro	15 (62)
Segundo	03 (13)
Terceiro	01 (4)
Sem sintomas	05 (21)
Sinais e sintomas (19)	
Exantema	19 (100)
Febre	10 (53)
Deslocamento	-
STORCH¹ no pré-natal (19)	
Sífilis	19 (100)
Confirmado	02 (11)
Toxoplasmose	19 (100)
Rubéola	07 (37)
Citomegalovírus	03 (16)
Herpes	-
RT-PCR Zika detectado (14)	13 (93)
Teste rápido Zika IgG reagente	13 (54)
PRNT² Zika positivo	24 (100)

¹ STORCH – Sífilis, Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes

² PRNT - Teste de Neutralização por Redução de Placas

A mediana de idade encontrada foi de 25, variando desde 17 até 40 anos. A escolaridade da maioria das mulheres é até o ensino médio (67%), ensino fundamental 30% e apenas um caso completou o ensino superior. As condições de moradia não foram mensuradas, no entanto, ficou constatado pelo pesquisador que na maioria das situações, as residências apresentavam limpeza insuficiente, quintal com entulhos, ausência de telas protetoras nas janelas, facilidade de acúmulo de água na área externa e estrutura precária de moradia. Mais da metade dos casos residem nos distritos Norte e Oeste.

A notificação do caso ocorreu, na maior parte, após o parto (58%). Os casos que evoluíram para aborto e natimorto foram detectados nas unidades de saúde que realizaram o atendimento da gestante, na data da ocorrência. O exame de imagem, ultrassom fetal foi realizado em 19 casos, o restante, não foi encontrado registro. Destes, 63% apresentaram alguma alteração no desenvolvimento fetal e dois casos (11%) não foi registrado alteração no exame.

O aparecimento do sintoma rastreado (exantema) ocorreu em 62% dos casos no primeiro trimestre da gestação, seguido de 13% no segundo trimestre e somente um caso no terceiro. Casos assintomáticos (21%) também ocorreram. O exantema foi o sintoma presente em todos os casos sintomáticos e 53% apresentaram febre. Também foi questionado se a gestante se deslocou do município durante a gestação e nenhum dos casos relatou ter saído de Ribeirão Preto nesse período.

Não só o ZIKV, mas também outros vírus e doenças podem estar relacionados a alterações no desenvolvimento fetal. As STORCH (Sífilis, Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes) são doenças que devem ser monitoradas durante a gestação. Neste estudo foi observado que nem todas as gestantes tinham esse registro, somente dezenove mulheres foram testadas para as STORCH. Estas realizaram sorologia para Sífilis e Toxoplasmose e duas delas (11%) resultaram reagentes para Sífilis. Para Rubéola somente 37% foi testado e para Citomegalovírus apenas três casos, resultando negativo. Nenhum caso foi testado para Herpes.

Com relação à investigação laboratorial do ZIKV, 14 casos realizaram RT-PCR para ZIKV durante a gestação, pois tiveram a oportunidade de coletarem sangue e/ou urina para diagnóstico no Instituto Adolfo Lutz, conforme protocolo estadual. Destes, 13 (93%) foram reagentes. Durante a entrevista na residência foi coletado sangue da mãe para realizar o teste rápido para IgG contra ZIKV e também o PRNT. O teste rápido foi reagente somente para 54% dos casos, já o PRNT foi positivo para todas as 24 mulheres testadas.

Na Tabela 3 estão as características dos RN vivos notificados no sistema RESP como suspeita de SCZ. A maioria dos casos (61%) é do sexo masculino e todos nasceram a termo. A mediana do perímetro cefálico ao nascer foi de 31 centímetros, sendo o menor 26,5 e 34 o maior. Utilizando o critério antropométrico, 11 (61%) casos atenderam a definição de caso, sendo oito (73%) casos classificados como microcefalia grave e três (27%) casos como microcefalia. Com base no critério clínico, sete (39%) casos apresentaram ultrassom com padrão alterado na gestação. Nenhum caso apresentou artrogripose ou anormalidades visuais, com base nas informações do banco de dados. O peso ao nascer de 12 (67%) casos ficou acima de 2500 gramas e seis (33%) entre 1500 e 2500 gramas.

Tabela 3 - Características dos RN vivos com suspeita de SCZ notificados.

Características dos RN vivos. N=18	N (%)
Sexo masculino	11 (61)
A termo	18 (100)
Perímetro cefálico (mediana)	31 [26,5-34]
Critério antropométrico	11 (61)
Microcefalia grave ¹	08 (73)
Microcefalia ²	03 (27)
Critério clínico	07 (39)
USG com padrão alterado	07 (39)
Artrogripose	-
Anormalidades visuais	-
Peso ao nascer	
>2500	12 (67)
1500 – 2500	06 (33)
Teste rápido IgG não reagente	18 (100)
PRNT Zika positivo	12 (67)

¹ Perímetro cefálico < -3 desvios-padrão de acordo com a idade gestacional ao nascer e sexo, segundo a tabela de InterGrowth.
² Perímetro cefálico < -2 desvios-padrão de acordo com a idade gestacional ao nascer e sexo, segundo a tabela de InterGrowth.

Fonte: o autor, 2020.

Durante a entrevista na residência foi coletado sangue da criança para realizar o teste rápido para IgG contra ZIKV e também o PRNT. O teste rápido foi não reagente para todos os casos, já o PRNT foi positivo para 12 (67%) crianças testadas.

Os achados clínicos em exames de imagem foram: microcefalia, calcificações patológicas, atrofia encefálica, ventriculomegalia compensatória, padrão de lisencefalia, simplificação giral, cistos subependimários, restrição de crescimento intrauterino, dilatação do terceiro ventrículo, aumento da cisterna magna, sinais de anomalia do desenvolvimento

cortical, redução volumétrica cerebral com afilamento do corpo caloso, paquigiria e vasculopatia.

Na Tabela 4 estão representados os resultados laboratoriais dos testes de RT-PCR que foram realizados previamente nas gestantes sintomáticas a partir de amostras de mães e bebês com SCZ, do Teste Rápido para detecção qualitativa simultânea de anticorpos IgG e IgM contra o ZIKV e do PRNT (IgG), com a respectiva porcentagem de neutralização, realizado durante a coleta de dados deste estudo.

Tabela 4 - Resultados laboratoriais.

Casos	Zika Mãe RT-PCR IAL ou LVM	Teste rápido Zika LVM				PRNT Zika LVM			
		Mãe		Filho		Mãe		Filho	
		IgG	IgM	IgG	IgM	% neutralização	IgG Zika	% neutralização	IgG Zika
A	Não realizado	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	95,45	Positivo	27,28	Negativo
B	Detectável	Reagente	Negativo	Negativo	Negativo	95,45	Positivo	31,81	Negativo
C	Detectável	Reagente	Negativo	Negativo	Negativo	86,36	Positivo	72,72	Positivo
D	Não realizado	Reagente	Negativo	Negativo	Negativo	100,00	Positivo	68,18	Positivo
E	Detectável	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	90,91	Positivo	72,72	Positivo
F	Não realizado	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	72,72	Positivo	72,72	Positivo
G	Não realizado	Reagente	Negativo	Negativo	Negativo	86,36	Positivo	45,45	Negativo
H	Não realizado	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	100,00	Positivo	72,72	Positivo
I	Não realizado	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	90,91	Positivo	40,91	Negativo
J	Detectável	Reagente	Negativo	Negativo	Negativo	100,00	Positivo	50,00	Positivo
K	Detectável	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	100,00	Positivo	95,45	Positivo
L	Detectável	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	86,36	Positivo	81,82	Positivo
M	Detectável	Reagente	Negativo	Negativo	Negativo	100,00	Positivo	63,63	Positivo
N	Não realizado	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	95,45	Positivo	31,82	Negativo
O	Não realizado	Reagente	Negativo	Negativo	Negativo	95,45	Positivo	72,72	Positivo
P	Não realizado	Reagente	Reagente	Negativo	Negativo	90,91	Positivo	63,64	Positivo
Q	Detectável	Reagente	Negativo	Negativo	Negativo	77,27	Positivo	45,45	Negativo
R	Detectável	Reagente	Negativo	Negativo	Negativo	63,63	Positivo	90,91	Positivo
S	Detectável	Reagente	Negativo	Aborto		95,45	Positivo	Aborto	
T	Detectável	Reagente	Negativo	Aborto		100,00	Positivo	Aborto	
U	Detectável	Negativo	Negativo	Aborto		77,27	Positivo	Aborto	
V	Detectável	Negativo	Negativo	Aborto		98,83	Positivo	Aborto	
X	Detectável	Reagente	Reagente	Aborto		81,82	Positivo	Aborto	
Z	Detectável	Negativo	Negativo	Aborto		83,33	Positivo	Aborto	

Fonte: o autor, 2020.

7 DISCUSSÃO

De outubro de 2015 até maio de 2017, 26 países das Américas relataram casos confirmados de SCZ e, segundo a Pan American Health Organization (PAHO) neste período, de 3.374 casos, 82% ocorreram no Brasil. Entre as semanas epidemiológicas 45/2015 e 15/2018 (08/11/2015 a 14/04/2018), o Ministério da Saúde foi notificado de 15.874 casos suspeitos de alterações no crescimento e desenvolvimento possivelmente relacionados à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas. Quanto aos casos com investigação concluída, a Secretaria de Vigilância em Saúde (2018) declarou que 7.140 (45,0%) foram descartados, 3.149 (19,8%) foram confirmados, 447 (2,8%) foram classificados como prováveis para relação com infecção congênita durante a gestação e 314 (2,0%) como inconclusivos.

No Estado de São Paulo foram notificados 1469 casos suspeitos de microcefalia. Destes, até agosto de 2018, 210 ainda em investigação, 972 casos descartados, 58 casos confirmados com amostra positiva para ZIKV, 43 casos confirmados como sugestivos de infecção congênita por Storch, 64 casos confirmados de infecção congênita sem identificação etiológica (confirmados de infecção congênita por alteração típica de imagem), 106 casos prováveis por infecção congênita e 16 casos inconclusivos. Neste estudo a investigação foi realizada no município de Ribeirão Preto, local onde ocorreu maior número de casos prováveis de SCZ notificados na região e no estado de São Paulo, totalizando 45 casos investigados e classificados, até o final do ano de 2017. A Secretaria de Saúde de São Paulo publicou em 2018 uma Lista Estadual de Verificação de Emergências (LVE) elencando regiões de saúde com maior frequência de casos prováveis foram: Capital com 26 confirmados, Santos 14, Campinas 13 e Mogi das Cruzes 12 casos.

A identificação dos casos de ZIKV em gestantes veio a ser considerada prioridade no sistema de vigilância nacional e estadual. Nestes casos, estava previsto a realização de exame para detecção de RNA viral por RT-PCR no laboratório de referência em saúde pública - IAL. Foi então padronizada a definição de caso suspeito de ZIKV: pacientes que apresentem exantema maculopapular pruriginoso acompanhado de dois ou mais dos seguintes sinais e sintomas - febre, hiperemia conjuntival sem secreção e sem prurido, poliartralgia ou edema periarticular. Gestante suspeita de infecção por ZIKV: toda gestante, em qualquer idade gestacional, com doença exantemática aguda e excluídas as hipóteses não infecciosas.

Todas as gestantes sintomáticas que procuraram uma unidade de saúde no município tiveram a oportunidade de coletar exame de RT-PCR para ZIKV, caso estivessem até o quinto

dia de início dos sintomas para coleta de sangue e até o oitavo dia para teste na urina. No entanto, partindo do banco de dados dos casos prováveis de SCZ notificados, algumas mães não desenvolveram sintomas durante a gestação e ficaram sem diagnóstico etiológico da SCZ do seu RN. Esse foi um dos objetivos específicos alcançados por este estudo, que era estabelecer a associação entre os casos de síndrome congênita e a infecção pelo ZIKV durante a gestação.

As definições de caso para microcefalia e, posteriormente para SCZ, foram constantemente atualizadas até que em 2017 foi publicado o documento “Orientações integradas de vigilância e atenção à saúde no âmbito da Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional” e nele o Ministério da Saúde apresenta as novas definições operacionais para notificação, investigação, classificação e acompanhamento de fetos, RN e crianças, desde o pré-natal até a primeira infância. Este documento, emitido em 2017 pela Secretaria de Atenção à Saúde, é a referência vigente até o momento e um esquema destas definições de caso está apresentado no Anexo B.

Historicamente, a região de Ribeirão Preto apresenta alta incidência de casos de dengue, com epidemias de grande proporção nos últimos anos. A presença do vetor *Aedes aegypti* é constante e a transmissão do vírus dengue já não é mais interrompida sazonalmente. Neste ambiente propício para a disseminação de arboviroses, o ZIKV ganhou espaço e atingiu uma população susceptível em um território endêmico (CAMPOS, BANDEIRA, SARDI, 2015; VASCONCELOS, 2015). Sutherst (2004) demonstrou que a densidade demográfica de municípios populosos favorece a transmissão de doenças de origem vetorial. Ribeirão Preto conta com 700.000 habitantes. No Brasil, verificou-se maior coeficiente de prevalência de microcefalia ao nascer em municípios com mais de 500 mil habitantes. Esses municípios também possuem melhor estrutura, melhor gestão da rede de serviços de saúde e geralmente tem mais condições de detectar e notificar casos de microcefalia do que municípios de menor porte populacional (SOUZA et al., 2016).

Com a introdução do ZIKV no município de Ribeirão Preto a transmissão foi explosiva. Houve semana epidemiológica com notificação de até 250 casos suspeitos, gerando um impacto relevante na assistência à saúde do município. Com o avanço da epidemia começaram a surgir os casos de microcefalia, o que já era esperado porque esta ocorrência tinha sido alertada pelo Ministério da Saúde logo nos primeiros casos notificados no Nordeste do país. No Brasil, no período 2000-2014, o número de nascidos vivos com microcefalia apresentou estabilidade. Entretanto, a partir de agosto de 2015, observou-se aumento inesperado de casos, principalmente no Estado de Pernambuco (SOUZA et al., 2016). Em

fevereiro de 2016, a Organização Mundial de Saúde declarou que o surto de casos de microcefalia e outras alterações neurológicas notificadas no Brasil, após a ocorrência de quadro semelhante na Polinésia Francesa em 2014 constituía uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII), devido à possível associação ao ZIKV.

Em 2015, o coeficiente de prevalência de microcefalia ao nascer no Brasil foi 54,6 casos por 100 mil nascidos vivos. A região com o maior coeficiente foi o Nordeste (139 casos por 100 mil nascidos vivos). Na região Sudeste a epidemia iniciou um pouco mais tardiamente e, de acordo com estudo realizado na época, o coeficiente de prevalência foi de 25,0 casos por 100 mil nascidos vivos (SOUZA et al., 2016). Na epidemia na Polinésia Francesa um estudo demonstrou que as taxas de infecção pelo ZIKV na população variam por diversos fatores como a subnotificação de microcefalia e trimestre gestacional da infecção e encontrou um coeficiente de 2 a 12 casos por 10 mil nascidos vivos (JOHANSSON et al., 2016).

Em Ribeirão Preto foram confirmados 29 casos de microcefalia e/ou alteração neurológica entre 2015 e 2017. O coeficiente de prevalência no município foi de 3,4 em 2015. O maior coeficiente foi em 2016, com 27,3 casos por 10 mil nascidos vivos. O ano de 2016 foi o de maior incidência no Estado de São Paulo, segundo dados do Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos (SINASC), aumentou três vezes no período 2015-2016, passando de 3,46 em 2015 para 9,52 casos por 10 mil nascidos vivos em 2016. O maior número de casos confirmados foi nos municípios de Ribeirão Preto e Campinas (MARTINS et al., 2018).

A análise de dados secundários provenientes dos sistemas de vigilância do Ministério da Saúde (OLIVEIRA et al., 2017) apontou a ocorrência de duas ondas distintas da epidemia pelo vírus Zika em gestantes que atingiram todas as regiões do Brasil em 2015 e 2016. A primeira onda teve início com o aumento da incidência de casos prováveis de infecção pelo vírus Zika, em março de 2015, seguido pelo crescimento do número de casos de microcefalia na região Nordeste, a partir de agosto do mesmo ano e continuou até abril de 2016. A segunda onda foi mais abrangente e atingiu todas as regiões do Brasil de novembro de 2015 a agosto de 2016. Durante a segunda onda, o aumento do número de casos de microcefalia foi menor nas regiões Sul, Sudeste e Norte, a maior incidência em 2016 foi registrada na região Centro-Oeste. Esses achados reforçam as marcantes desigualdades regionais existentes no Brasil. As razões para as diferenças na ocorrência de microcefalia ao longo do tempo e em diferentes regiões ainda não estão completamente elucidadas. Além disso, o crescimento da prevalência de microcefalia na região Nordeste foi bastante superior ao observado em outros países atingidos pela epidemia do ZIKV (JOHANSSON et al., 2016).

Uma explicação é o critério adotado para a definição de microcefalia, que foi inicialmente mais sensível, baseado no perímetro cefálico, o que permitiu a detecção do maior número de casos. Outra explicação possível é a existência de condições ambientais e sociais propícias para a propagação do ZIKV e a infecção de gestantes na região Nordeste. Possivelmente, a intensidade da epidemia do ZIKV, as ações de controle do *Aedes aegypti* e a adoção de medidas de proteção individuais ou domiciliares (repelentes, roupas compridas, telas e mosquiteiros), especialmente para proteção de gestantes, podem estar implicadas na menor ocorrência de microcefalia durante a segunda onda de propagação do vírus Zika. Outras hipóteses incluem o aumento intencional da interrupção da gravidez e as ações de saúde pública implementadas para diminuir a exposição ao mosquito pelas mulheres grávidas (OLIVEIRA et al., 2017).

O primeiro caso provável de SCZ no município foi notificado pelo Núcleo de Vigilância Hospitalar do Hospital das Clínicas da USP de Ribeirão Preto no dia 24 de novembro de 2015. Nascido no dia 20 de novembro, a termo, perímetro cefálico de 26 centímetros. Foi realizado exame de Ressonância Magnética de crânio que evidenciou: extensa lesão destrutiva encefálica com ventriculomegalia supratentorial compensatória e focos de calcificações associados a provável disgenesia do tronco cerebral; corpo caloso não identificado; exame sugestivo de infecção congênita. A mãe relatou ter tido febre e exantema no primeiro trimestre da gestação. Depois deste, em dezembro mais quatro notificações, em 2016 foram 28 casos prováveis de SCZ e os abortos começaram a serem associados ao vírus Zika naquelas mulheres que apresentaram exantema no primeiro trimestre.

Como toda nova epidemia, a notificação de casos fica um pouco desencontrada no início até que os profissionais executores nas unidades de saúde conheçam a forma de notificação, os dados necessários, as especificidades clínicas e epidemiológicas do agravo e também as definições de caso, que tiveram mudanças no decorrer do processo. Tudo isso interfere na qualidade de dados informados à vigilância. Neste estudo foi observado que um pequeno número de casos foi detectado durante o pré-natal, por meio de ultrassonografias, apenas 8%. Outra explicação seria que a notificação só foi realizada após o parto por receio dos ginecologistas em notificar somente pelo exame de imagem, preferindo aguardar o nascimento para confirmação dos achados durante a gestação. Portanto, a maior parte das notificações ficou a cargo da vigilância epidemiológica da maternidade ou do profissional do serviço de controle de infecção hospitalar da instituição, de acordo com o identificado no banco de dados RESP.

A alta taxa de casos descartados logo de início se deve às alterações nas definições de caso que começaram mais sensíveis e foram alteradas para mais específicas. Em apenas cinco meses de evolução da epidemia foram feitas duas alterações. Taxas mais altas de descarte foram encontradas no banco de dados nacional, em 2015 com 57,8% e em 2016 uma taxa menor, 43,5% dos casos notificados foram descartados (FRANÇA et al., 2016). Neste estudo, conforme Tabela 1, 17% dos casos foram descartados logo na primeira análise.

Um número expressivo de abortos foi notificado (25%). Estes casos foram detectados graças ao trabalho de busca ativa realizado pela equipe de vigilância epidemiológica municipal. Todos os casos de gestantes com exantema notificados e com coleta de sangue para RT-PCR que resultaram positivos foram contatados e durante esta abordagem foi comunicado que a gestação evoluiu para aborto espontâneo. No estudo realizado em São José do Rio Preto, nenhuma das 54 gestantes monitoradas evoluiu para aborto (NOGUEIRA et al., 2018). Estudo realizado no Rio de Janeiro com 70 gestantes positivas para o ZIKV por RT-PCR durante o primeiro trimestre, somente duas (2,8%) abortaram (BRASIL et al., 2016). Outros estudos de acompanhamento de gestantes positivas para ZIKV devem ser realizados para conhecer melhor esta taxa de abortamento.

Com relação à participação no estudo e a taxa de 52% de recusa, algumas considerações devem ser feitas. Foram realizadas ligações telefônicas pelo próprio pesquisador, com uma fala padronizada e flexível de acordo com a fala da mãe, com o objetivo de esclarecer a importância da pesquisa, no entanto, a taxa de recusa foi cerca de metade da população de estudo, o que foi considerado compreensível. Um dos motivos foi que o início da coleta de dados se deu um ano após o nascimento do bebê e, em todo esse período, outros pesquisadores e profissionais fizeram contato com as mães solicitando que participassem de pesquisas de diversas áreas, desde unidades básicas de saúde municipal até o Hospital das Clínicas da USP que acolheu essa demanda e também iniciou outros projetos de pesquisa relacionados. Outro motivo de recusa foi a necessidade de coleta de sangue do bebê e da criança. Já os casos que aceitaram participar receberam o pesquisador em casa e se dispôs a recontar toda a história, falar sobre o processo vivido até aquela data e permitiu prontamente a coleta de sangue. A recusa foi menor, porém também existiu, por parte das mulheres que tiveram aborto e natimortos. A causa seria o trauma desta evolução negativa da gestação, levando algumas mulheres a não querer conversar mais sobre o assunto. Um dos argumentos utilizados pelo pesquisador foi que os danos da infecção pelo vírus Zika ainda não estavam esclarecidos e que a participação na pesquisa iria contribuir para a ciência e a saúde pública. Em alguns casos a recusa foi revertida quando o pesquisador se mostrou disponível para ouvir

as histórias e também quando esclareceu que seria realizado um exame laboratorial (PRNT) que ainda não estava disponível na rede de saúde pública e privada, somente no laboratório de Virologia da USP.

Os casos prováveis de SCZ no município de Ribeirão Preto começaram a surgir no mesmo período da epidemia de casos de ZIKV na população. Ao construir a curva epidemiológica (Fig. 2), fica clara a relação temporal. Os primeiros casos de ZIKV começaram a ser detectados e notificados no final de 2015, de acordo com o início de sintomas, a epidemia teve início na semana epidemiológica 48, final de novembro e início de dezembro. Neste estudo foi possível recuperar a data de início de sintomas das mulheres que manifestaram exantema na gestação, coletaram oportunamente o RT-PCR para ZIKV com resultado positivo e foram confirmadas como caso de SCZ. Portanto, quando os casos são alinhados de acordo com o início dos sintomas, é possível relacionar temporalmente que o início dos sintomas dessas mulheres que tiveram filhos com SCZ ocorreu no mesmo período do início da circulação do ZIKV no município e do pico de incidência da doença na população.

A maioria dos casos confirmados de SCZ teve início de sintomas no primeiro trimestre da gestação (Fig. 3), o que comprova que quanto mais cedo é a infecção, maiores são as alterações neurológicas no feto. O mesmo foi encontrado no estudo realizado no estado do Rio de Janeiro, no qual 125 gestantes com comprovação de infecção pelo ZIKV por RT-PCR tiveram desfechos desfavoráveis em 55% dos casos quando a infecção ocorreu no primeiro trimestre, 51,4% no segundo e 29,4% no terceiro (BRASIL et al., 2016). Estudo realizado com dados nacionais evidenciou que quanto mais cedo a infecção ocorreu na gestação, menor foi o perímetro cefálico ao nascimento. Além disso, alterações neurológicas associadas ao exantema tardio também foram relatadas e são compatíveis com o forte efeito neurotrópico do ZIKV, nesses casos, o perímetro cefálico pode não sofrer alteração, pois o crescimento ocorre em grande parte até 30 semanas, mas ainda assim apresentam danos cerebrais importantes (FRANÇA et al., 2016).

Um dos maiores estudos caso-controle publicado foi realizado em Pernambuco, com o apoio do Ministério da Saúde e da OPAS, com o objetivo de testar a hipótese de associação entre microcefalia e infecção congênita pelo ZIKV. Por uma amostra de 91 casos e 173 controles foi confirmada a forte associação (OR = 73,1; IC95%: 13,0-∞). Adicionalmente, as vacinas durante a gravidez e o uso de larvicida não foram associados à microcefalia. Esses achados fortalecem a interpretação da associação causal entre microcefalia em RN e a SCZ durante a epidemia de ZIKV no Brasil. (ARAÚJO et al., 2018).

Os casos de SCZ cujas mães não desenvolveram sintomas durante a gestação ficaram inicialmente sem comprovação laboratorial. Esta era uma das questões que angustiava as mães que receberam o diagnóstico clínico ou apenas por exame de imagem do filho com alteração neurológica. A ausência de uma definição etiológica da causa desta evolução da gestação fez com que muitas participassem deste estudo, aceitando a coleta de sangue para tentar ter uma comprovação de que a alteração teria sido realmente causada pelo vírus. Neste estudo foi comprovada laboratorialmente a infecção, evidenciada pela presença de anticorpos anti-Zika em todas as 24 mulheres testadas. No estudo realizado em Pernambuco foi encontrado 70% de positividade pelo PRNT (ARAÚJO et al., 2018).

Nas amostras de sangue coletadas das mulheres deste estudo foi realizado o teste rápido para ZIKV, 13 casos (54%) resultaram em IgG reagente. Também foi realizada a detecção da presença de anticorpos neutralizantes contra o ZIKV por meio de técnica de PRNT e todos os 24 casos foram reagentes (100% de positividade). Ficou evidenciado que o teste rápido tem baixa concordância com o PRNT. Para os RN, o teste rápido não detectou nenhum caso reagente e 67% foram positivos no PRNT.

Considerando que o município de Ribeirão Preto era endeme ao ZIKV, os anticorpos detectados nas mães deste estudo evidenciam a infecção pelo vírus durante a epidemia ocorrida no município. Sete casos que não havia definição etiológica laboratorial da SCZ foram beneficiados com este diagnóstico.

O PRNT é o teste indicado internacionalmente para confirmação de sorologia IgM positiva para ZIKV no caso de gestantes com achados pré-natais de ultrassonografia consistentes com a infecção congênita pelo ZIKV. Pode ser utilizado para determinar resultados de anticorpos IgM falsos positivos causados por reatividade inespecífica. Achados recentes indicam que os títulos de anticorpos neutralizantes podem diferenciar infecções por dengue e vírus Zika, particularmente em amostras coletadas a partir do terceiro mês após o início da doença (SHARP, 2019).

Outros vírus foram pesquisados durante o pré-natal, no entanto, nem todos os casos foram testados para STORCH, o que revelou uma falha no processo do pré-natal no município. Dois casos foram confirmados com co-infecção por sífilis (11%). Dados nacionais apontam 5,4% dos casos com alguma infecção por STORCH associada a alteração neurológica no feto (OLIVEIRA et al., 2017). Dados estaduais resultaram em 13,9% de casos associados a STORCH (MARTINS et al., 2018)

Dos 11 casos classificados pelo critério antropométrico, oito (73%) classificados como microcefalia grave e três casos (27%) como microcefalia. Embora um fenótipo típico da

microcefalia relacionada ao ZIKV tenha sido descrito, nem todos os casos de SCZ terão esse fenótipo, não está restrito apenas a microcefalia. Um achado importante é que a microcefalia com SCZ pode estar presente com estruturas cerebrais normais e que os casos de microcefalia com alterações típicas podem ser negativos para o ZIKV em testes laboratoriais. A baixa proporção de RN com confirmação laboratorial da infecção pelo vírus ZIKV é esperada porque o RT-PCR é muito específico, mas é menos sensível que o IgM, especialmente se o vírus desapareceu do soro no final da gravidez (ARAÚJO et al., 2018). Neste estudo todos os testes rápidos de sorologia para ZIKV nos RN foram negativos (Tabela 3).

Os resultados demonstrados na Tabela 4 evidenciam que 15 casos já tinham diagnóstico realizado através do exame de RT-PCR, que foi realizado durante a gestação, naquelas gestantes que apresentaram exantema e/ou outros sintomas de infecção por ZIKV. No entanto, nove casos (37,5%) não apresentaram sintomas e não tiveram a oportunidade de terem sido diagnosticadas com esta infecção. Neste estudo conseguimos fornecer um resultado laboratorial para as mães que ainda não tinham um diagnóstico comprovatório de que a síndrome congênita do bebê tinha sido associada ao ZIKV. Desta forma, foi possível relacionar a SCZ a ter anticorpos contra ZIKV no sangue da mãe. No município de Ribeirão Preto, a doença não tinha precedentes, portanto, podemos associar a presença do anticorpo contra ZIKV à mãe ter tido a infecção no período gestacional.

Outro achado importante foi que os resultados do teste rápido foram discordantes com os resultados de PCR reagentes. A infecção foi comprovada na fase de viremia em 15 mulheres, no entanto, o teste rápido não detectou o IgG em seis (40%) destes casos. Outra discordância ocorreu nos resultados de IgG do teste rápido comparados com os casos reagente no PRNT. Um total de 11 casos (46%) resultaram negativos no teste rápido e reagentes no PRNT.

Neste estudo foram encontradas algumas limitações, uma delas a qualidade do banco de dados secundário (RESP) que foi implantado durante a epidemia, em caráter emergencial, para notificação dos primeiros casos, com pouco tempo para treinamento das equipes das unidades de saúde. As alterações frequentes nas definições de caso também podem ter gerado viés de seleção. A indisponibilidade de resultados de sorologia para STORCH no pré-natal pode ter deixado passar alguns casos com co-infecção. Viés de memória, pelo espaço de tempo da coleta de dados primários ter sido realizada um ano após o nascimento. A elevada proporção de perdas (52%), deixou de beneficiar algumas mães com o benefício do diagnóstico etiológico oferecido por este estudo.

CONCLUSÕES

Os casos de SCZ ocorridos no município de Ribeirão Preto foram descritos, os achados comprovam a existência de uma epidemia por ZIKV na população a partir do mês de dezembro de 2015, com um pico explosivo em 2016. Esta epidemia gerou casos de síndrome congênita que foram associados a infecção pelo ZIKV na gestação através da identificação de anticorpos anti-Zika utilizando a técnica de PRNT em amostras das 24 mulheres que participaram do estudo, independente de terem apresentado sintomas.

Esta foi a primeira descrição de casos de ZIKV e de SCZ no município de Ribeirão Preto. A técnica de PRNT para diagnóstico etiológico foi essencial para esclarecer os casos que ficaram sem definição etiológica. Este exame é de difícil execução e atualmente não está disponível no sistema de saúde, somente em alguns centros de pesquisa de universidades e laboratórios públicos de referência para casos específicos. A parceria do Grupo de Vigilância Epidemiológica (GVE) de Ribeirão Preto do Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) da Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo com o Laboratório de Virologia Molecular do Centro de Pesquisa em Virologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (LVM-CPV-FMRP-USP) foi fundamental para que os objetivos deste estudo fossem alcançados, pois este método diagnóstico foi executado pelo LVM.

A cooperação entre serviço público e universidade é uma oportunidade de aprendizado para ambas as partes e deve ser cada vez mais estimulada para auxiliar as investigações laboratoriais em epidemias e outros eventos, o que traz benefício para todos.

CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo faz parte do projeto “guarda-chuva” apresentado pelo Professor Doutor Benedito Antonio Lopes da Fonseca sob o título de “Investigação sobre as infecções causadas pelo vírus Zika”. Registro no Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) sob número 52664516.7.0000.5440. Número do parecer: 1.428.859. O projeto de pesquisa assim como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foram aprovados no Conselho de Ética em Pesquisa (CEP).

Não houve riscos associados a esta pesquisa, apenas a dor decorrente da coleta de amostras de sangue. Como benefício, determinamos a real associação do vírus Zika com a microcefalia observada nos RN.

Em relação à abordagem aos sujeitos da pesquisa, foi iniciada na forma de convite, via telefone, apresentando-lhes os objetivos da pesquisa de forma verbal. Com a concordância da mãe em participar da pesquisa, foi agendada a visita do pesquisador no domicílio e entregue o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para a assinatura dos envolvidos, participante e pesquisador. Tal procedimento teve por objetivo obedecer aos dispositivos da Resolução do Conselho Nacional de Saúde n° 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde, a qual regulamenta as diretrizes e normas de pesquisas envolvendo seres humanos.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO T. V. B. de et. al. Association between microcephaly, Zika virus infection, and other risk factors in Brazil: final report of a case-control study. **Lancet Infect. Dis.**, v. 18, n. 11, p. 328–336, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Ministério da Saúde confirma relação entre vírus Zika e microcefalia**. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. Disponível em: <<http://www.blog.saude.gov.br/index.php/combate-ao-aedes/50399-ministerio-da-saude-confirma-relacao-entre-virus-zika-e-microcefalia>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Orientações integradas de vigilância e atenção à saúde no âmbito da Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional: procedimentos para o monitoramento das alterações no crescimento e desenvolvimento a partir da gestação até a primeira infância, relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas dentro da capacidade operacional do SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/orientacoes_integradas_vigilancia_atencao_emergencia_saude_publica.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2019.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia relacionada à infecção pelo vírus Zika**. Brasília, 2015.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia e/ou alterações do sistema nervoso central (SNC)**. Brasília, 2015.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Implantação do Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose como Problema de Saúde Pública no Brasil: primeiros passos rumo ao alcance das metas**. Boletim epidemiológico n. 11, v. 49. Brasília, 2017. Disponível em: <<http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/marco/26/2018009.pdf>>. Acesso em: 13 mar. 2019.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 32, 2016**. Boletim epidemiológico n. 3, v. 48. Brasília, 2017. Disponível em: <<https://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/abril/06/2017-002-Monitoramento-dos-casos-de-dengue--febre-de-chikungunya-e-febre-pelo-virus-Zika-ate-a-Semana-Epidemiologica-52-2016.pdf>>. Acesso em: 13 mar. 2019.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Monitoramento integrado de alterações no crescimento e desenvolvimento relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas, até a Semana Epidemiológica 15 de 2018**. Boletim Epidemiológico n. 22, v. 49. maio 2018. Disponível em: <<http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/maio/28/2018-022.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2018.

BRASIL P. et. al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. **New England Journal of Medicine**, New England, v. 375, n. 24, p. 2321-2334, 2016.

CAMPOS, G. S., BANDEIRA, A. C., SARDI, S. I. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Bahia, v. 21, n. 10, p. 1885-1886, 2015.

CARDOSO, C. W. et al. Outbreak of exanthematous illness associated with zika, chikungunya, and dengue viruses, Salvador, Brazil. **Emerging Infectious Disease**, v. 21, n. 12, p. 2274-2276, 2015.

CALVET, G. et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. **Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 6, p. 653-660, 2016.

DICK, G. W.; KITCHEN, S. K.; HADDOW, A. J. Zika virus (I). Isolations and serological specificity. **Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 506-524, 1952.

DUFFY, M. R. et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 24, p. 2536-2543, 2009.

DUPONT-ROUZEYROL, M. et al. Co-infection with zika and dengue viruses in 2 patients, New Caledonia, 2014. **Emerging Infectious Disease**, v. 21, n. 2, p. 381, 2015.

FAYE, O. et al. Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20(th) century. **PLoS Neglected Tropical Disease**, v. 8, n. 1, p. 2636, 2014.

FRANÇA G. V. et al. Congenital Zika virus syndrome in Brazil: a case series of the first 1501 livebirths with complete investigation. **Lancet Infectious Diseases**, v. 388, n. 10047, p. 891-897, ago. 2016.

HADDOW, A. D. et al. Genetic characterization of Zika virus strains: geographic expansion of the Asian lineage. **PLoS Neglected Tropical Disease**, v. 6, n. 2, p. 1477, 2012.

IOOS, S. et al. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 44, n. 7, p. 302-307, 2014.

JOHANSSON M. A. et al. Zika and the risk of microcephaly. **New England Journal of Medicine**, New England, v. 375, p. 1-4, jul. 2016.

LANCIOTTI, R. S. et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. **Emerging Infectious Disease**, v. 14, n. 8, p. 1232-1239, 2008.

MARCONDES, C. B.; XIMENES, M. F. F. M. Zika virus in Brazil and the danger of infestation by *Aedes (Stegomyia) mosquitoes*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 49, n. 1, p. 4-10, 2016.

MARTINS, R. S. et al. Descrição dos casos de síndrome congênita associada à infecção pelo ZIKV no estado de São Paulo, no período 2015 a 2017. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, DF, v. 27, n. 3, 2018.

MARTINES, R.B. et al. Notes from the field: evidence of Zika virus infection in brain and placental tissues from two congenitally infected newborns and two fetal losses – Brazil, 2015. **MMWR Morb Mortal Wkly**, v. 65, n. 6, 2016.

MELO, A. O. et al., Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, v. 47, n. 1, p. 6-7, 2016.

MUSSO, D. et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 14, 2014.

MUSSO, D.; NILLES, E. J.; CAO-LORMEAU, V. M. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 10, 2014.

NOGUEIRA, M. L. et al. Adverse birth outcomes associated with Zika virus exposure during pregnancy in São José do Rio Preto, Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 24, p. 646 – 652, jun. 2018.

OLIVEIRA W. K. et al. Infection-related microcephaly after the 2015 and 2016 Zika virus outbreaks in Brazil: a surveillance-based analysis. **Lancet**, v. 390, n. 10097, p. 861-70, ago. 2017

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). **Epidemiological alert: neurological syndrome, congenital malformations, and Zika virus infection. Implications for public health in the Americas, 2015.** Disponível em: <<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-dec-1-cha-epi-alert-zika-neuro-syndrome.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2018.

_____. **Provisional remarks on Zika virus infection in pregnant women:** document for health care professionals. Montevideo, 2016.

_____. **Zika - epidemiological update situation summary in the Americas.** Washington, DC, 2017.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. **Lista Estadual de Verificação de Emergências (LVE).** São Paulo, 2018.

_____. Secretaria de Estado da Saúde. **Protocolo de Vigilância para Gestantes com Exantema.** São Paulo, 2016.

SHARP T. M. et al. Dengue and Zika Virus Diagnostic Testing for Patients with a Clinically Compatible Illness and Risk for Infection with Both Viruses. **MMWR Recomm. Rep.**, v. 68, n. 1, jun. 2019.

SOUZA, M. F. M. et al. Microcefalia no Brasil: prevalência e caracterização dos casos a partir do Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos (Sinasc), 2000-2015. **Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 701-712, 2016.

SUTHERST, R. W. Global change and human vulnerability to vector-borne diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.l.], v. 17, n. 1, p. 136-173, jan. 2004.

VASCONCELOS, P. F. C. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas? **Revista PanAmazônica de Saúde**, v. 6, n. 2, p. 9-10, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Who statement on the first meeting of the International Health Regulations (2005) (IHR 2005). Emergency Committee on Zika virus and observed increase in neurological disorders and neonatal malformations.** Geneva, 2016. Disponível em: <[https://www.who.int/news-room/detail/01-02-2016-who-statement-on-the-first-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-\(ihr-2005\)-emergency-committee-on-zika-virus-and-observed-increase-in-neurological-disorders-and-neonatal-malformations](https://www.who.int/news-room/detail/01-02-2016-who-statement-on-the-first-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-(ihr-2005)-emergency-committee-on-zika-virus-and-observed-increase-in-neurological-disorders-and-neonatal-malformations)>. Acesso em: 20 ago. 2016.

ANEXO A**Questionário de investigação para Síndrome Congênita do Zika Vírus**

Dados do RN

Número do questionário: _____

Nome: _____

Sexo: Masculino Feminino Idade gestacional: _____ semanas

Exame físico ao nascer

Peso (g):	PC (cm):	Outras anomalias: () Sim () Não	
Altura (cm):	PT (cm):	Se sim, especificar: _____	
Índice de Apgar:	1ºmin:	5ºmin:	10ºmin:

Informações sobre o parto

Data de ocorrência: ____ / ____ / ____

Local de ocorrência: Hospital público Hospital privado Hospital filantrópico Domicílio Outros serviços de saúde

Identificação do serviço de saúde: _____

Município de ocorrência: _____

Tipo de parto: Normal Fórceps CesáreoDano perinatal: Anóxico Isquêmico Hemorrágico Traumático Outro : Se sim: Especificar: _____

Exames de imagem

Tomografia craniana: Sim Não Se sim, data da realização: __ / __ / ____,Resultado: Normal calcificações lisencefalia atrofia cerebral suturas permeáveis suturas calcificadas Ventriculomegalia outras, especificar: _____Ressonância magnética craniana: Sim Não Se sim, data da realização: __ / __ / ____,Resultado: Normal calcificações lisencefalia atrofia cerebral suturas permeáveis suturas calcificadas Paquirragia outras, especificar: _____Ultrassonografia transfontanela: Sim Não Se sim, data da realização: __ / __ / ____,Resultado: Normal calcificações lisencefalia atrofia cerebral suturas permeáveis suturas calcificadas ventriculomegalia Outras, especificar: _____

Outros exames

Avaliação oftalmológica: Sim Não – Se sim, data da realização: ____ / ____ / ____Foi encontrada alguma alteração: Sim Não – Se sim, especificar: coriorretinite atrofia ótica catarata retinopatia pigmentar glaucoma congênito outras, especificar: _____Avaliação fonoaudiológica: Sim Não – Se sim, data da realização: ____ / ____ / ____Foi encontrada alguma alteração: Sim Não – Se sim, especificar: _____**Exames etiológicos**

Exame	Realizado	Data da coleta	Resultado
Rubéola	() Sim () Não	__/__/__	() IgM reagente () IgG reagente () IgM não reagente () IgG não reagente. () inconclusivo

Citomegalovírus	() Sim () Não	__/__/____	() IgM reagente () IgG reagente () IgM não reagente () IgG não reagente. () inconclusivo
Toxoplasmose	() Sim () Não	__/__/____	() IgM reagente () IgG reagente () IgM não reagente () IgG não reagente. () inconclusivo
Zika vírus	() Sim () Não	__/__/____	Positivo () Negativo () inconclusivo ()
Chikungunya	() Sim () Não	__/__/____	() IgM reagente () IgG reagente () IgM não reagente () IgG não reagente. () inconclusivo
Dengue	() Sim () Não	__/__/____	() IgM reagente () IgG reagente () IgM não reagente () IgG não reagente. () inconclusivo
1-Outros	() Sim () Não	__/__/____	() Reagente/positivo () Não reagente/negativo
2-Outros	() Sim () Não	__/__/____	() Reagente/positivo () Não reagente/negativo
Sífilis (VDRL)	() Sim () Não	__/__/____	() Reagente () Não reagente () inconclusivo

Se sífilis reagente, título: _____ Recebeu tratamento? Sim () Não () –

Se sim, data do início do tratamento: __/__/____

Dados da mãe e pré-natal

Identificação e dados sociodemográficos

Nome: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Idade: ____ anos

Raça/Cor: [] Branca [] Preta [] Amarela [] Parda [] Indígena [] Ignorada

Escolaridade (considerar o maior nível completo): [] Sem escolaridade [] Fundamental I [] Fundamental II [] Médio [] Superior [] Ignorada

Estado civil: [] Solteira [] Casada [] Viúva [] Separada/Divorciada [] União estável [] Ignorada

Há algum parentesco com o seu companheiro: [] Sim [] Não – Se sim, qual: _____

Ocupação: _____

Qual é a renda familiar mensal: _____

Quantas pessoas moram na sua casa: _____

Antecedentes da gestação

Peso no início da gestação: _____ (kg) Peso no final da gestação: _____ (kg) Altura (m): _____

Você possuía convênio ou plano de saúde: [] Sim [] Não

Em geral, você diria que sua saúde era: [] Muito boa [] Boa [] Regular [] Ruim [] Muito ruim [] Ignorada

Fazia uso de algum medicamento de uso contínuo: [] Sim [] Não – Se sim, qual (is): _____

Teve diagnóstico de alguma doença pré-existente: [] Sim [] Não – Se sim, qual (is): [] Doença metabólica crônica [] Cardiopatia crônica [] Renal crônico [] Pneumopatia crônica [] Hemoglobinopatia []

Imunodeprimido []

Outras: _____

Já teve diagnóstico ou recebeu tratamento para alguma doença sexualmente transmissível: [] Sim [] Não

Se sim, qual (is): [] HIV [] Sífilis [] Gonorreia [] Clamídia [] Hepatites B e/ou C [] Outras, especificar: _____

Possui malformações congênitas: (mão do RN) [] Sim [] Não – Se sim, qual(is): _____

Teve contato com pesticidas: [] Sim [] Não – Se sim, especificar: _____

Teve contato com agrotóxicos: [] Sim [] Não – Se sim, especificar: _____

Teve contato com outros químicos [] Sim [] Não – Se sim, especificar: _____

Moradia e viagem durante a gestação

Morou em outro endereço durante a gestação: [] Sim [] Não

Estado: ____ Município: _____

Viajou durante a gestação: [] Sim [] Não

Data da viagem: ____/____/____

Tempo de permanência: ____ (dias)

Estado: _____ Município: _____

Histórico obstétrico/ginecológico

Primeira gestação? [] Sim [] Não – Se sim, pular para dados da gestação. Se não:

Quantas vezes você já engravidou (considerar abortos e natimortos): _____

Quantos filhos nasceram vivos: _____

Quantos filhos nasceram mortos: _____

Já teve algum aborto: [] Sim [] Não – Se sim, quantos: _____

Alguns desses filhos nasceu com malformação congênita? [] Sim [] Não – Se sim, qual (is): _____

Data de nascimento do último filho: __/__/____

Gestação

Realizou pré-natal nesta gestação: [] Sim [] Não

Nº de consultas: 1º trimestre: _____ 2º trimestre: _____ 3º trimestre: _____ Total: _____

Data da primeira consulta: __/__/____ Idade gestacional no momento da 1ª consulta: _____

Unidade de saúde que realizou pré-natal: _____

Município de realização do pré-natal: _____

Tipo de gestação: [] única [] dupla [] tripla ou mais

Exames de imagem

Exames de imagem	1º Trimestre				2º trimestre				3º trimestre			
	Realizado	IG	PC (cm)	Laudo	Realizado	IG	PC (cm)	Laudo	Realizado	IG	PC (cm)	Laudo
Ultrassonografia	() Sim () Não				() Sim () Não				() Sim () Não			
Radiografia	() Sim () Não				() Sim () Não				() Sim () Não			

Você fez uso de suplementos vitamínicos e minerais durante a gestação?

Acido fólico: [] Sim [] Não – Se sim, data que iniciou o tratamento: __/__/____

Ferro: [] Sim [] Não – Se sim, data que iniciou o tratamento: __/__/____

Outros: [] Sim [] Não Se sim: Quais:

Medicamento 1 _____ data que iniciou o tratamento: __/__/____

Medicamento 2: _____ data que iniciou o tratamento: __/__/____

Presença de exantema [] Sim [] Não – Se sim, quando: ____/____/____

Duração do exantema: _____ (em dias)

Local de início (corpo): [] Cabeça/pescoço [] Difuso [] MMII [] MMSS [] Tronco

Evolução (para onde se espalhou): [] Cabeça/pescoço [] Difuso [] MMII [] MMSS [] Tronco

1º. Trimestre []	2º. Trimestre []	3º. Trimestre []
Teve algum dos seguintes sinais e sintomas? () Febre () Prurido () Tosse () Coriza () Cefaleia () Mialgia () Artralgia () Linfadenopatia () Hiperemia conjuntival () Vômitos	Teve algum dos seguintes sinais e sintomas? () Febre () Prurido () Tosse () Coriza () Cefaleia () Mialgia () Artralgia () Linfadenopatia () Hiperemia conjuntival () Vômitos () Dor retroorbital	Teve algum dos seguintes sinais e sintomas? () Febre () Prurido () Tosse () Coriza () Cefaleia () Mialgia () Artralgia () Linfadenopatia () Hiperemia conjuntival () Vômitos

() Dor retrorrbital () Outros, especificar: _____ Se sim, Data do início dos 1º. sintomas: __ / __ / __	() Outros, especificar: _____ Se sim, Data do início dos 1º. sintomas: __ / __ / __	() Dor retrorrbital () Outros, especificar: _____ Se sim, Data do início dos 1º. sintomas: __ / __ / __
---	---	---

Teve atendimento médico durante a gestação: [] Sim [] Não

Se sim: Qual a hipótese diagnóstica: _____

Hábitos durante a gestação

Álcool - Fez uso de bebida alcoólica na gestação: [] Sim [] Não – Se sim:

Com que frequência você utilizava bebidas alcoólicas por semana: [] Uma [] duas [] três [] quatro

[] cinco [] seis [] sete ou mais

Quantas doses ou drinks você costumava tomar nesses dias: [] Uma [] duas [] três ou mais

Com que frequência tomava mais que três doses ou drinks na mesma ocasião: [] Nunca [] mensalmente ou menos [] Mensalmente [] Semanalmente [] Diariamente [] Ignorada

Tabagismo - Em relação ao cigarro, você diria que:

[] Nunca fumei [] Fumei no passado, mas na gestação não [] Fumei menos que 10 cigarros por dia

[] Fumei de 10 a 20 cigarros por dia [] Fumei mais de 20 cigarros por dia [] Ignorada

Se fumante, há quantos anos fuma: _____

Se ex-fumante, parou de fumar há quanto tempo (dias, meses ou anos): _____

Possui histórico de microcefalia na família? () Sim () Não

Encerramento do caso

Etiologia provável: [] infecciosa [] genética/cromossômica [] ambiental (fármacos, toxicológicas, radiações ionizantes, outras) [] inconclusiva

Se infecciosa, qual agente etiológico: _____

Evolução: [] alta [] óbito – Data da evolução: ____ / ____ / ____

Complicações durante a gestação: Desenvolveu alguma complicação durante a gestação: [] Sim [] Não

Se sim: quais

[] ITU

[] Anemia

[] DM gestacional

[] HAS gestacional

[] Pré-eclâmpsia

[] Placenta prévia

[] Oligodrâmnio

[] Polidrâmnio

[] Insuficiência do colo uterino

[] Hiperemese gravídica

[] Anomalias anatômicas do útero

[] Descolamento de placenta

[] Crescimento intraútero restrito

[] Incisura

[] Outras

Se outras, especificar: _____

Observações: _____

Dados do investigador

Data de investigação: ____ / ____ / ____

Nome do investigador: _____

ANEXO B - Esquema das definições de caso para SCZ.

RECÉM NASCIDOS/CRIANÇAS/ÓBITOS				
GRUPO	IMAGEM/CLÍNICO	FEBRE OU EXANTEMA NA GESTAÇÃO	LABORATÓRIO ZIKA	LABORATÓRIO STORCH
INFECÇÃO CONGÊNITA SEM IDENTIFICAÇÃO ETIOLÓGICA				
CONFIRMADO	DOIS OU MAIS SINTOMAS (INCLUINDO ACHADO NOS EXAMES DE IMAGEM)	COM	SEM RESULTADO, NEGATIVO OU INCONCLUSIVO	SEM RESULTADO, NEGATIVO OU INCONCLUSIVO
PROVÁVEL	DOIS OU MAIS DOS SINAIS E SINTOMAS CLÍNICOS (EXAME DE IMAGEM NÃO DISPONÍVEL)	SEM	SEM RESULTADO, NEGATIVO OU INCONCLUSIVO	SEM RESULTADO, NEGATIVO OU INCONCLUSIVO
INFECÇÃO CONGÊNITA COM IDENTIFICAÇÃO ETIOLÓGICA				
CONFIRMADO PARA ZIKA	DOIS OU MAIS SINAIS (IMAGEM) OU DOIS OU MAIS DOS SINAIS E SINTOMAS CLÍNICOS	_____	POSITIVO OU REAGENTE (RN)	NEGATIVO OU INCONCLUSIVO (MÃE OU RN)
CONFIRMADO PARA STORCH	DOIS OU MAIS SINAIS (IMAGEM) OU DOIS OU MAIS DOS SINAIS E SINTOMAS CLÍNICOS	_____	NEGATIVO OU INCONCLUSIVO (MÃE OU RN)	POSITIVO OU REAGENTE (MÃE OU RN)
CONFIRMADO PARA STORCH + ZIKA (COINFECÇÃO)	DOIS OU MAIS SINAIS (IMAGEM) OU DOIS OU MAIS DOS SINAIS E SINTOMAS CLÍNICOS	_____	POSITIVO OU REAGENTE (RN)	POSITIVO OU REAGENTE (MÃE OU RN)
PROVÁVEL PARA STORCH + ZIKA	DOIS OU MAIS SINAIS E SINTOMAS CLÍNICOS (EXAME DE IMAGEM NÃO DISPONÍVEL)	COM	SEM RESULTADO, NEGATIVO OU INCONCLUSIVO (RN) E POSITIVO OU REAGENTE (MÃE)	SEM RESULTADO, NEGATIVO OU INCONCLUSIVO (RN OU MÃE) E POSITIVO OU REAGENTE (MÃE)
FETOS				
INFECÇÃO CONGÊNITA SEM IDENTIFICAÇÃO ETIOLÓGICA				
CONFIRMADO	DOIS OU MAIS SINTOMAS (IMAGEM)	COM	SEM RESULTADO OU NEGATIVO (GESTANTE)	SEM RESULTADO OU NEGATIVO (GESTANTE)
PROVÁVEL	DOIS OU MAIS SINTOMAS (IMAGEM)	SEM	SEM RESULTADO OU NEGATIVO (GESTANTE)	SEM RESULTADO OU NEGATIVO (GESTANTE)
INFECÇÃO CONGÊNITA COM IDENTIFICAÇÃO ETIOLÓGICA				
CONFIRMADO PARA ZIKA	DOIS OU MAIS SINAIS (IMAGEM)	_____	POSITIVO OU REAGENTE (GESTANTE)	NEGATIVO OU INCONCLUSIVO (GESTANTE)
CONFIRMADO PARA STORCH	DOIS OU MAIS SINAIS (IMAGEM)	_____	NEGATIVO OU INCONCLUSIVO (GESTANTE)	POSITIVO OU REAGENTE (GESTANTE)
CONFIRMADO PARA STORCH + ZIKA (COINFECÇÃO)	DOIS OU MAIS SINAIS (IMAGEM)	_____	POSITIVO OU REAGENTE (GESTANTE)	POSITIVO OU REAGENTE (GESTANTE)
PROVÁVEL PARA STORCH + ZIKA	DOIS OU MAIS SINAIS (IMAGEM)	COM	INCONCLUSIVO (GESTANTE)	INCONCLUSIVO (GESTANTE)
HATMORTO OU ÓBITO APÓS NASCIMENTO				
INFECÇÃO CONGÊNITA COM IDENTIFICAÇÃO ETIOLÓGICA				
CONFIRMADO PARA ZIKA	_____	_____	Positivo ou reagente (natimorto ou RN)	Negativo ou inconclusivo (mãe, natimorto ou RN)
CONFIRMADO PARA STORCH	_____	_____	Negativo ou inconclusivo (natimorto ou RN)	Positivo ou reagente (mãe, natimorto ou RN)
CONFIRMADO PARA STORCH + ZIKA (COINFECÇÃO)	_____	_____	Positivo ou reagente (natimorto ou RN)	Positivo ou reagente (mãe, natimorto ou RN)
PROVÁVEL PARA STORCH + ZIKA	DOIS OU MAIS SINAIS (IMAGEM) OU DOIS OU MAIS DOS SINAIS E SINTOMAS CLÍNICOS	COM	Inconclusivo (natimorto ou RN) E positivo/reagente (mãe)	Inconclusivo (natimorto ou RN) E positivo/reagente (mãe)
ABORTO ESPONTÂNEO OU ÓBITO FETAL				
INFECÇÃO CONGÊNITA COM IDENTIFICAÇÃO ETIOLÓGICA				
CONFIRMADO PARA ZIKA	_____	_____	Positivo ou reagente (gestante)	Negativo ou inconclusivo (gestante)
CONFIRMADO PARA STORCH	_____	_____	Negativo ou inconclusivo (gestante)	Positivo ou reagente (gestante)
CONFIRMADO PARA STORCH + ZIKA (COINFECÇÃO)	_____	_____	Positivo ou reagente (gestante)	Positivo ou reagente (gestante)
PROVÁVEL PARA STORCH + ZIKA	DOIS OU MAIS SINTOMAS (IMAGEM)	COM	Inconclusivo (gestante)	Inconclusivo (gestante)
CLASSIFICAR CASOS COMO INCONCLUSIVOS				
CASO INCONCLUSIVO	Casos notificados em que não seja possível realizar a investigação etiológica, por motivo de recusa ou por não ser possível encontrá-lo após três tentativas E Cujos resultados e informações disponíveis não permitam classificá-los em outra categoria			